

腫瘍分子生物学研究分野

教授 高橋 智聡

助教 Shamma Awad

特任助教 北嶋 俊輔

博士研究員 佐々木 信成

協力研究員 Mohammed Salah Abdallah Mohammed

大学院生（博士課程） 村中 勇人

大学院生（修士課程） 西本 裕希

技能補佐員 鈴木 美砂

助教 林 直之

博士研究員 河野 晋

大学院生（博士課程） 吉田 晶代

技能補佐員 永谷 直子

【 研 究 概 要 】

ヒトがんにおける臨床的レリバンスが豊富ながん遺伝子・がん抑制遺伝子を変異させたマウス・細胞を中心に、シンプルで、分子生物学的・遺伝学的な解析がしやすい *in vivo*・*in vitro* がんモデル系を組み立て、発がん・転移・薬剤耐性・がん幹細胞を克服する突破口となる新規パスウェイを探索する。近年は、研究の焦点を RB 遺伝子のシグナル制御、代謝制御、微小環境制御、エピジェネティック制御機能に絞り込み、RB および関連がん抑制遺伝子不活性シグナチャーからがん悪性進展・未分化性制御の有効標的を探し出す試みを続けている。

RB 不活性化とがん悪性進展

コモンタイプのがんにおける RB 不活性化は、イニシエーション時ではなくプログレッション時に起こる。C 細胞悪性進展モデルを用い、様々な遺伝学的背景において Rb を追加的に不活性化したところ、p53 欠損背景においてのみ特異的に未分化な表現型を呈することがわかった。乳がん・前立腺がん・横紋筋肉腫等においては、RB のステータスが未分化性や薬剤耐性出現に直結する。これらの知見を踏まえ、p53 欠損背景における RB 機能を解析するための軟部肉腫モデルを樹立（北嶋ら）、RNA-seq、マイクロアレイ等の遺伝子発現解析、メタボローム・ ^{13}C ・ ^{14}C フラックス解析を含む種々の代謝解析、細胞・分子生物学的解析、既存薬剤スクリーニング等を行った。

RB による代謝制御機構

脂肪酸生合成：RB の SREBP1 依存的機能を探索するために、SREBP1 のプロセッシング・核移行機構解明、RB 不活性化による脂肪酸・脂質メディエーター群の変化の LC-MS/MS 解析（小野薬品工業共同研究）、Rb-Srebp1 DKO を含む種々の遺伝子改変マウスの解析を行っている。（村中）

コレステロール生合成：RB によるコレステロール生合成経路の広汎な制御が、RB 不活性化によって誘導される未分化性にどのように関わるのかを探索している。またコレステロール代謝物のなかでがんの未分化性維持に関わる分子を絞り込んでいる。スタチンへの適応追加を睨んでいる。（佐々木）

中心炭素代謝：様々なコンテキストとくに未分化性誘導における RB 不活性化が代謝制御全般に与えるインパクトを測定し、その生物学的意義を考察している。

代謝経路において見出した RB の新規標的遺伝子群の中でも、とくに PGAM1,2 と IDH1 の機能に着目し、がん細胞の未分化性を維持する代謝機構の解明に挑む。また解糖系代謝物アナログによるがん未分化性制御の方策を探索している（第一三共共同研究）。（河野・鈴木）

RB による微小環境制御機構

軟部肉腫モデルを用い、RB 不活性化によって誘導されるサイトカイン・ケモカイン分泌亢進と STAT3 の持続的活性化が腫瘍の未分化性維持に重要であることを見出した。この臨床的意義を種々の遺伝子改変マウスを用いて考察するとともに、RB 不活性化のシグナチャーとその未分化性を特徴付けるシグナチャーの似通っている乳がん探索系を拡張し、この臨床的意義を考察している。（北嶋・永谷）

in silico 解析による RB 機能の探索

研究室内で得られた RNA-seq データと既報のシグナチャーとの相関解析 (GSEA 等) や、RNA-seq データから作成した RB 不活性化シグナチャーを用いた GO 解析・KEGG 解析あるいは臨床検体を用いた公開データを利用した予後解析などを行い、RB 不活性化シグナチャーの臨床的意義を考察している。in silico 解析において Gene symbol の種差を克服する方法を用い、マウス細胞から得られたシグナチャーをヒトのそれと容易に比較することのできる系を確立した。また、RB の新規標的として miR-140 等を見出し、この臨床的意義を探索している。（吉田）

代謝・エピジェネティック・転写制御のノード分子としての RB

RB 不活性化によって、DNMT1-HDAC 複合体が乖離し、活性化 ATM が DNMT1 に結合、Tip60 によるアセチル化とその後の UHRF(E3 ligase)によるユビキチン化を促進、DNMT1 が分解され、DNA メチル化異常が起こることを今年度発表した(Shamma)。DNA 損傷応答と細胞老化をつなぐ有力な説明を提示した。その後、AMPK による RB リン酸化が、RB-DNMT1-HDAC 複合体形成のトリガーとなる可能性を見出し、更に、細胞の栄養環境(ATP/AMP)が、RB 機能制御を介して、エピジェネティック制御へと繋がる可能性を探索している（林）。代謝とエピジェネティック制御の新しい接点を探索する。

インビトロがん幹細胞・悪性進展モデルの拡張

$p53^{-/-}; Rb^{flox/flox}$, $p53^{-/-}; PTEN^{flox/flox}$ あるいは $p53^{-/-}; Rb^{flox/flox}; PTEN^{flox/flox}$ 乳腺（西本）および前立腺（Mohammed）上皮初期培養細胞を in vitro 系において cre recombinase 感染させることにより、幹細胞様の挙動が異なる腫瘍性増殖細胞ペア数群を得た。このようなペア細胞群のマイクロアレイ解析を行い、幹細胞性獲得のコンテキストにおける RB および PTEN 不活性化のシグナチャーを決定している。従来の軟部肉腫モデルを拡張し、コモンタイプのがん腫の未分化性を制御するための標的となる鍵分子の発見を目指す。

【 研 究 業 績 】

< 発表論文 >

(研究室主体)

1. Shamma A, Suzuki M, Hayashi, N, Kobayashi M, Sasaki N, Nishiuchi T, Doki Y, Okamoto T, Kohno S, Muranaka H, Kitajima S, Yamamoto K and Takahashi C. ATM mediates pRB function to control DNMT1 protein stability and DNA methylation. *Mol Cell Biol*, 33: 3113-3124, 2013.

(共同研究)

1. Siddesha J M, Valente A J, Sakamuri S S, Yoshida T, Gardner J D, Somanna N, Takahashi C, Noda M and Chandrasekar B. Angiotensin II stimulates cardiac fibroblast migration via the differential regulation of matrixins and RECK. *J Mol Cell Cardiol*, 65: 9-18, 2013.
2. Hayashi N, Kobayashi M, Shamma A, Morimura Y Takahashi C and Yamamoto K. Regulatory interaction between NBS1 and DNMT1 responding to DNA damage. *J Biochem*, 154: 429-435, 2013.

(著書・総説)

1. 高橋 智聡. 実験医学 News and Hot Paper Digest「セリンはピルビン酸キナーゼ M2 の天然リガンドである」 Vol.31 No.3 p412-413,2013 小笹徹編 羊土社刊

< 学会発表 >

1. 北嶋俊輔, 高橋智聡. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation. 「第3回新学術領域発がんスパイラル国際シンポジウム」 & 「金沢国際がん生物学シンポジウム」 2013年1月 (金沢)
2. 村中勇人, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 河野晋, Shamma A, 高橋 智聡. The impact of RB status on lipidogenic phenotype in cancer cells. 「第3回新学術領域発がんスパイラル国際シンポジウム」 & 「金沢国際がん生物学シンポジウム」 2013年1月 (金沢)
3. 佐々木信成, 高橋 智聡. The metabolic function of RB in controlling mevalonate (MVA) pathway and cancer stem cells. 「第3回新学術領域発がんスパイラル

国際シンポジウム」&「金沢国際がん生物学シンポジウム」 2013 年 1 月（金沢）

4. 河野晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 高橋 智聡. The metabolic function of RB tumor suppressor gene. 「第 3 回新学術領域発がんスパイラル国際シンポジウム」 & 「金沢国際がん生物学シンポジウム」 2013 年 1 月（金沢）
5. 北嶋俊輔, 高橋 智聡. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation. 平成 24 年度「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」公開シンポジウム 2013 年 1 月（東京）
6. 高橋 智聡, 河野晋, 佐々木信成, 村中勇人, 北嶋俊輔. 個体の非ふるえ熱産生経路とがん幹細胞のあいだに関係はあるか？平成 24 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ 2013 年 2 月（滋賀）
7. 北嶋俊輔, 高橋智聡. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with metabolic reprogramming and inflammation. 平成 24 年度「個体レベルでのがん研究支援活動」ワークショップ 2013 年 2 月（滋賀）
8. Kohno S, Kitajima S, Muranaka H, Sasaki N and Takahashi C. The metabolic function of Rb tumor suppressor gene in cancer stem cells. Tumor Metabolism. Keystone Symposia 2013 年 2 月（Keystone, Colorado, USA）
9. Kohno S, Kitajima S, Sasaki N, Muranaka H and Takahashi C. The metabolic function of RB tumor suppressor gene. AACR Annual Meeting 2013 2013 年 4 月（Washington, DC）
10. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能. 第 54 回日本生化学会中国・四国支部例会 『最先端酵素学シンポジウム』 2013 年 5 月（徳島）
11. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能. がんと代謝 メタボロミクスセミナー [共催：ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社] 2013 年 5 月（金沢）
12. Takahashi C. RB functions in rewiring cancer cell metabolism. 2013 SNUCRI & KUCRI SYMPOSIUM 2013 年 7 月（ソウル, 韓国）
13. Kitajima S, Tanaka T, Gotoh N and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. 平成 25 年度が

ん若手研究者ワークショップ 2013 年 9 月（蓼科）

14. 佐々木信成, 高橋智聡. RB によるメバロン酸経路の制御とがん幹細胞における役割. 平成 25 年度がん若手研究者ワークショップ 2013 年 9 月（蓼科）
15. 岡橋 伸幸, 松田 史生, 河野 晋, 高橋 智聡, 清水 浩. p53 ノックアウトマウス軟部腫瘍由来細胞株におけるグルタミンの還元的代謝. 第 8 回メタボロームシンポジウム 平成 25 年 10 月(福岡)
16. Sakai K, Suzuki T, Yano S, Takahashi C, Nishiuchi T and Matsumoto K. Dysfunction of polycomb group chromobox protein in tumor malignancy. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月（横浜）
17. 北嶋俊輔, 鈴木佐和子, 田中知明, 高橋智聡. Rb によるサイトカインを介したがん悪性化制御機構の解明. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月(横浜)
18. 河野 晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 高橋智聡. がん抑制遺伝子 RB の代謝調節機能. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月（横浜）
19. Shamma A, Hayashi N, Sasaki N and Takahashi C. The pRB-ATM-DNMT1 nexus is a novel pathway to the epigenetic control of cancer progression. 第 72 回日本癌学会学術総会 2013 年 10 月（横浜）
20. Takahashi C. RB functions in rewiring cancer cell metabolism. Third International Rb Meeting 2013 年 10 月（Monterey, CA. USA）
21. Kitajima S, and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. Third International Rb Meeting 2013 年 10 月（Monterey, CA. USA）
22. Kohno S, Kitajima S, Sasaki N, Muranaka H and Takahashi C. The role of RB tumor suppressor gene in central carbon metabolism. Third International Rb Meeting 2013 年 10 月（Monterey, CA. USA）
23. Gutierrez J, Takahashi C and Brandan E. Decreased expression of RECK, a novel

matrix metalloproteinase inhibitor, improves the efficiency of muscle stem cell therapy. XXVII Annual Meeting of the Sociedad de Biología Celular de Chile 2013 年 10 月 (Puerto Varas, Chile)

24. Contreras O Takahashi C, Brandan E and Gutierrez J. The expression of RECK, a novel modulator of extracellular matrix integrity, is regulated by TGF- β : possible clues for proper tissue remodeling. XXVII Annual Meeting of the Sociedad de Biología Celular de Chile 2013 年 10 月 (Puerto Varas, Chile)
25. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子の代謝制御機能. 第 1 回 がん代謝研究会 2013 年 11 月 (鶴岡)
26. 河野 晋, 北嶋俊輔, 佐々木信成, 村中勇人, 鈴木佐和子, 田中知明, 岡橋信幸, 松田史生, 清水浩, 高橋智聡. RB の中心炭素代謝調節機能. 第 1 回 がん代謝研究会 2013 年 11 月 (鶴岡)
27. 岡橋 伸幸, 松田 史生, 河野 晋, 高橋 智聡, 清水 浩. p53 ノックアウトマウス軟部腫瘍由来細胞株におけるグルタミンの還元的代謝. 第 1 回 がん代謝研究会 2013 年 11 月 (鶴岡)
28. 高橋智聡. RB がん抑制遺伝子による「生老病死」の制御. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 (神戸)
29. Kitajima S, Yoshida A, Suzuki S, Tanaka T, Gotoh N and Takahashi C. Undifferentiated state induced by Rb inactivation associated with enhanced inflammatory signaling. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 (神戸)
30. 林直之, アワド・シャムマ, 小林昌彦, 高橋智聡, 山本健一. DNA ダメージに応じたヘテロクロマチン形成制御における NBS1 と DNMT1 の相互作用. 第 36 回日本分子生物学会年会 2013 年 12 月 (神戸)

<外部資金>

1. 高橋智聡 :
先端研究助成基金 (最先端・次世代研究開発支援プログラム) 30,000 千円
2. 高橋智聡 :
平成 25 年度 北海道大学遺伝子病制御研究所共同利用・共同拠点「細菌やウイルスの持続性感染により発生する感染癌の先端的研究拠点」 430 千円
3. 高橋智聡 :
平成 25 年度 東京大学医科学研究所共同研究 480 千円

4. 高橋智聡：
武田科学助成金
「ビジョナリーリサーチ継続助成（2010・2011 年度ホップ） 5,000 千円
5. 北嶋俊輔：
科学研究費補助金 若手 B 1,800 千円
6. 佐々木信成：
科学研究費補助金 若手 B 1,800 千円

<共同研究>

1. 大阪大学 清水浩博士，松田史生博士，岡橋伸幸氏「 ^{13}C フラックス解析によるがん幹細胞特異的代謝様態の解明」
2. 東京大学 末次志郎博士 「IRSp53 と RB-p53 システムの遺伝学的関係」
3. 京都大学 三木貴雄博士「時間生物学における RB-p53 システム」
4. 京都大学 河田照雄博士，高橋信之博士，後藤剛博士「細胞外フラックス測定機器を用いたがん幹細胞特異的代謝様式の解明」
5. 千葉大学 田中知明博士「がん幹細胞制御を目指した癌抑制遺伝子 p53-Rb ネットワークによる細胞内代謝・脂質代謝調節における基盤的研究」
6. 東京大学 岡部弘基博士，内山聖一博士「がん幹細胞モデルにおける細胞内温度分布の可視化」
7. 東京大学・金沢大学 東條有伸博士，後藤典子博士「細胞自律的炎症とメタボリック・リプログラミングによるがん幹細胞維持機構」
8. 北海道大学 藤田恭之博士「がん幹細胞と非がん幹細胞および間質細胞間の代謝的相互作用」
9. 小野薬品工業株式会社筑波研究所 多田秀明博士，林昭夫博士「Rb がん抑制遺伝子による脂質代謝制御機構とその臨床的意義の解明」
10. 金沢医科大学 岡崎俊朗博士「Rb 遺伝子欠損マウスでの腺癌発症機構におけるスフィンゴ脂質代謝調節を介した細胞周期制御の解明」
11. 筑波大学人間総合科学研究科 島野仁博士，松坂賢博士「がん幹細胞の脂質代謝における Rb がん抑制遺伝子と SREBP-1 遺伝子」

12. Pontificia Universidad Católica de Chile Jaime Gutiérrez 博士「Function of RECK in muscle dystrophy」
13. 第一三共株式会社研究開発本部癌研究所 堤信二博士，廣田泰秀博士 「乳がんがん幹細胞の代謝工学的解析と機構探索に基づく創薬基盤の創出」